

Magdalena Paplińska, Hanna Grubek-Jaworska, Ryszarda ChazanKlinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii Akademii Medycznej w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. med. Ryszarda Chazan

Rola eotaksyn w patofizjologii astmy

Role of eotaxin in the pathophysiology of asthma

Abstract

Asthma is associated with eosinophilic airway inflammation and eosinophils are believed to be important in the pathogenesis of asthma. IL-5 has been considered the central mediator for eosinophilic proliferation, differentiation and eosinophilic inflammation, but results of recent studies suggest that besides IL-5, eotaxin may contribute to the pathogenesis of asthma. Eotaxin is CC chemokine first isolated from guinea pig bronchoalveolar lavage. It selectively binds to a specific receptor (CCR3) highly expressed on eosinophils, basophils, and mast cells being important in the pathogenesis of asthma. Eotaxin is produced mainly by epithelial cells of lung and gut, to mediate organ preferential attraction of eosinophils. Production of eotaxin is stimulated by IL-4, IL-13, TNF- α . Human eotaxin family includes: eotaxin-1 (CCL11), eotaxin-2 (CCL24) and eotaxin-3 (CCL26). It seems that eotaxin-3 may be expressed following allergen challenge. Studies with glucocorticosteroids have shown some inhibitory effect on eotaxin production in cell culture *in vitro* however, very little *in vivo* data exists in humans relating to corticosteroid effects on chemokine levels. CCR3 receptor is considered as the possible therapeutic target in asthma treatment.

Key words: asthma, CCR3 receptor, eosinophils, eotaxins**Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 180–185**

Streszczenie

Astma wiąże się z napływem eozynofiliów do dróg oddechowych. Eozynofile odgrywają ważną rolę w patogenezie tej choroby. Interleukina-5 jest głównym czynnikiem regulującym proliferację, dojrzewanie i dystrybucję eozynofiliów, mimo że ostatnie badania sugerują, że poza IL-5 w patogenezie astmy może uczestniczyć eotaksyna. Eotaksyna jest CC chemokiną po raz pierwszy odkrytą w płynie z płukania oskrzelikowo-pęcherzykowego u świnki morskiej. Eotaksyna łączy się selektywnie z receptorem CCR3 obecnym na eozynofilach, bazofilach i mastocytach, co może wiązać się z patogenezą astmy. Jest ona wytwarzana przez komórki nabłonka płuc i jelit, pośredniczy w preferencyjnej rekrutacji eozynofiliów do tych organów. Produkcję eotaksyny stymuluje IL-4, IL-13, TNF- α . Obecnie znane są trzy eotaksyny ludzkie: eotaksyna-1 (CCL11), eotaksyna-2 (CCL24) i eotaksyna-3 (CCL26). Przypuszcza się, że ekspresja eotaksyny-3 może być następstwem prowokacji alergicznej. W badaniach na hodowlach komórkowych *in vitro* wykazano pewne działanie hamujące glikokortykosteroidów na produkcję eotaksyn. Danych klinicznych dotyczących wpływu leczenia kortykosteroidami na stężenie eotaksyn nie ma zbyt wiele. Receptor CCR3 bierze się pod uwagę jako cel terapeutyczny w astmie oskrzelowej.

Słowa kluczowe: astma, receptor CCR3, eozynofile, eotaksyny**Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 180–185****Adres do korespondencji:** Magdalena Paplińska, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii AM, ul. Żwirki i Wigury 61, 02–091 WarszawaPraca wpłynęła do Redakcji: 30.11.2006 r.
Copyright © 2007 Via Medica
ISSN 0867–7077

Wstęp

Przewlekły stan zapalny dróg oddechowych u chorych na astmę charakteryzuje się między innymi napływem do dróg oddechowych wielu typów komórek krwiopochodnych. Astmę od innych chorób zapalnych odróżnia selektywna rekrutacja eozynofików do dróg oddechowych. Zwiększony odsetek eozynofików stwierdza się w płwocinie i wydzielinach oskrzelowych chorych na astmę [1, 2]. Czynniki uwalniane z ziarnistości eozynofilowych, takie jak główne białko zasadowe (MBP, *major basic protein*), białko kationowe eozynofili (ECP, *eosinophil cationic protein*), peroksydaza eozynofilowa (EPO, *eosinophil peroxidase*) oraz reaktywne formy tlenu, nasilają proces zapalny w płucach przez uszkodzenie nabłonka dróg oddechowych i hamowanie ruchu rzęsek [3] oraz wpływają na przebudowę dróg oddechowych [4, 5]. Niektóre markery zapalenia eozynofilowego, jak na przykład ECP oznaczane w płwocinie indukowanej, ocenia się jako czułe wskaźniki różnicujące chorych na astmę oskrzelową w okresie bezobjawowym od osób zdrowych [6].

Dojrzewanie oraz dystrybucję tkankową eozynofików wiąże się z aktywnością interleukiny-5 (IL-5, *interleukin-5*), która wpływa na cykl życiowy tych komórek, ich przemieszczanie się ze szpiku kostnego do krwi i tkanek. W następstwie reakcji na alergen IL-5 zwiększa pulę eozynofików we krwi i hamuje apoptozę tych komórek w miejscu zapalenia [7]. Wiele danych wskazuje, że eozynofilia dróg oddechowych wiąże się także z aktywnością chemokin wydzielanych miejscowo przez nabłonki dróg oddechowych [8, 9]. Mechanizmy regulujące eozynofilię w astmie oskrzelowej w dalszym ciągu są ważnym i aktualnym tematem prac poglądowych [8, 10, 11].

Odkrycie eotaksyn

W doświadczalnych pracach przeprowadzonych w ostatnim dziesięcioleciu wykazano, że wysoce selektywnymi czynnikami chemotaktycznymi dla eozynofików są eotaksyny. Eotaksynę odkryto, oczyszczono i po raz pierwszy scharakteryzowano w 1994 roku w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (BALf, *bronchoalveolar lavage fluid*) świnki morskiej uczulonej albuminą jaja kurzego [12]. Jest to niskocząsteczkowa, 73-amino-kwasowa chemokina, zawierająca w łańcuchu aminokwasowym dwie cysteiny połączone mostkiem dwusiarczkowym. Budowa ta determinuje zaklasyfikowanie eotaksyny do chemokin CC(β). Homologiczną w budowie i aktywności chemokinę

odnaleziono także u człowieka [13]. Obecnie znane są trzy eotaksyny: eotaksyna-1 (CCL11), eotaksyna-2 (CCL24) i eotaksyna-3 (CCL26). Eotaksyna-1 ma budowę homologiczną z eotaksyną-2 i eotaksyną-3 jedynie w 30%, a geny kodujące te chemokiny są zlokalizowane na innych chromosomach. U ludzi gen kodujący eotaksynę-1 jest zlokalizowany na chromosomie 17q21.1-q21.2, natomiast geny kodujące eotaksynę-2 oraz eotaksynę-3 — na chromosomie 7q11.23 [14].

Receptor dla eotaksyn

Swoistym wybiórczym receptorem dla eotaksyn jest receptor błonowy CCR3 (*chemokine cysteine-cysteine receptor 3*), obecny głównie na eozynofilach, ale także na limfocytach T, bazofilach, makrofagach i mastocytach [15]. Inne chemokiny, takie jak RANTES (*regulated upon activation, T-lymphocyte expressed and secreted*) czy monocyto-chemotaktyczne białko-1 (MCP, *monocyte chemoattractant protein*), mogą także przekazywać sygnał przez CCR3, ale nie wiążą się z tym receptorem wybiórczo. Aktywacja receptora CCR3 na powierzchni eozynofila odbywa się przez przyłączenie chemokiny, co powoduje napływ jonów wapnia, aktywację kinaz białkowych, aktywację ekspresji CD11b (łańcuch integryny regulujący funkcję komórki zależną od cytokin), produkcję reaktywnych form tlenu, polimeryzację aktyny i co się z tym wiąże — zmianę kształtu komórki, a w końcowym etapie — uwolnienie ziarnistości eozynofila [16].

Produkcja eotaksyn a eozynofilia

Głównym źródłem eotaksyn jest nabłonek płuc i jelit, ale chemokiny te mogą być produkowane także przez limfocyty, makrofagi i eozynofile. W doświadczeniach na linii komórkowej eozynofików ludzkich (HL-60 EOS) wykazano, że eotaksyny są jedynym czynnikiem stymulującym te komórki do wytwarzania anionów nadtlennokowych [17]. W przebiegu procesu alergicznego poszczególne eotaksyny są wydzielane na kolejnych etapach rozwoju reakcji. Przypuszcza się, że każda z nich odgrywa własną, określoną rolę [17]. Badano związek kinetyki ekspresji mRNA i białka eotaksyny-1 z akumulacją eozynofików w drogach oddechowych chorych na astmę. Oceniano biopaty śluzówki oskrzeli oraz fazę płynną i komórkową BALf po 2, 4 oraz 24 godzinach po prowokacji alergicznej. W 4. godzinie po prowokacji obserwowano znamieny wzrost liczby aktywowanych eozynofików w biopatach śluzówek oraz wśród komórek

BALF. Rekrutacji eozynofilów towarzyszył wzrost ekspresji mRNA eotaksyny-1, a także wzrost stężenia tej chemokiny w płynie BAL, co korelowało ze stopniem zwężenia dróg oddechowych. W 24. godzinie po prowokacji zaobserwowano zmniejszenie stężenia eotaksyny-1 oraz mniejszą ekspresję mRNA i białka tej chemokiny, mimo dalszej utrzymującej się eozynofilii dróg oddechowych, co upoważniło autorów do wnioskowania o istnieniu innych niż eotaksyna-1 czynników odpowiedzialnych za utrzymywanie się napływu eozynofilów [18]. W kolejnych badaniach wykazano, że zwiększona ekspresja eotaksyny-2 oraz eotaksyny-3 towarzyszy eozynofilii w drogach oddechowych oraz koreluje z nasileniem zaburzeń oddechowych w późnej reakcji astmatycznej (LAR, *late asthmatic response*). Sugeruje się, że zwiększenie stężenia eotaksyny-2 i eotaksyny-3 w drogach oddechowych chorych na astmę ma znaczenie w utrzymywaniu się eozynofilii w późniejszym okresie [19]. Na ważną rolę eotaksyny-3 w utrzymywaniu się eozynofilii po fazie LAR wskazywały już wcześniejsze badania Berkmana i wsp., którzy 24 godziny po prowokacji antygenowej obserwowali zwiększoną ekspresję mRNA eotaksyny-3 w biopsatach z dróg oddechowych chorych na astmę w stosunku do badania przed prowokacją [20].

O ile BALF jest dość bogatym źródłem eotaksyn, o tyle wyniki podobnych badań z płwociną indukowaną nie zawsze są jednoznaczne. Podkreśla się problem oddziaływania na eotaksynę substancji stosowanych w upłynnianiu mucyn obecnych w płwocinie. Mogą one niszczyć mostki siarczkowe i denaturując nieodwracalnie epitopy eotaksyn, utrudniać ich wykrywanie metodami immunoenzymatycznymi [21]. Z badań, w których działanie mukolityku ograniczono do 5 minut, co — jak wykazano eksperymentalnie — nie mogło zmieniać oceny stężenia eotaksyny, wynika, że podwyższenie stężenia eotaksyn w płwocinie nie jest typowe wyłącznie dla astmy, a dotyczy także palaczy tytoniu [22]. Jednak jedynie u chorych z astmą podwyższonemu stężeniu eotaksyny w płwocinie towarzyszy znamienne podwyższone stężenie IL-5. Zatem według tych autorów tylko jednocześnie podwyższenie stężenia eotaksyny oraz IL-5 w płwocinie może być wyznacznikiem astmy. Ostatnio, w badaniu na nielicznej grupie chorych z astmą i zdrowych ochotników (odpowiednio 7 i 5 osób), podjęto próbę oceny wpływu inhalacji eotaksyny w porównaniu z placebo na stężenie wydychanego NO, eozynofilię, nadreaktywność oskrzeli oraz obecność eozynofilów w płwocinie stymulowanej. Nieoczekiwanie, jedynym mierzalnym efektem działania eotaksyny w badaniach wyko-

nanych w 5., 24. i 72. godzinie po jej inhalacji był wzrost odsetka neutrofilów w płwocinie [23]. Wyniki te świadczą, że na proces rekrutacji eozynofilów do dróg oddechowych w przebiegu astmy wpływa wiele czynników, a nie jedynie eotaksyna-1.

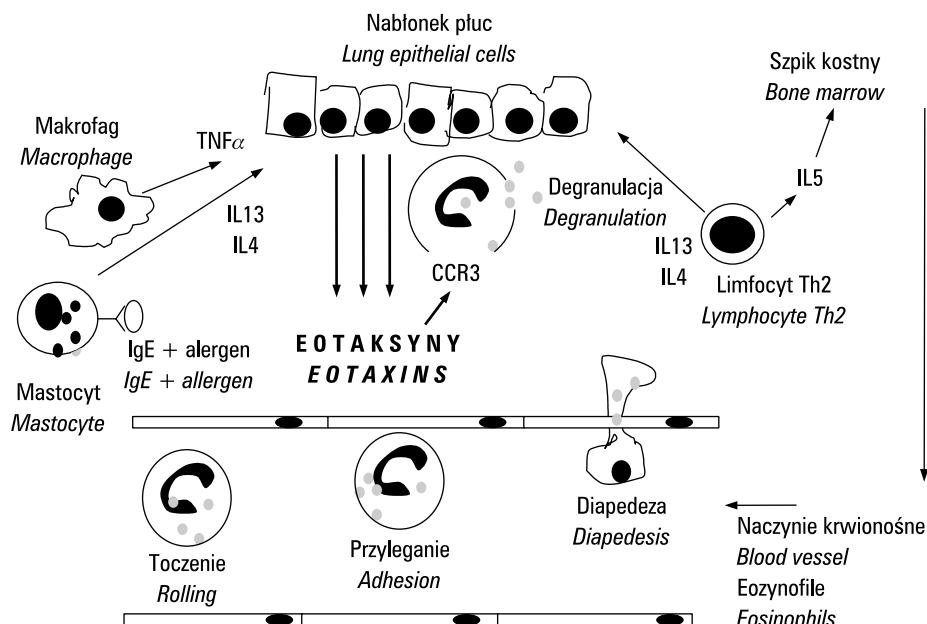
Regulacja produkcji eotaksyn przez inne cytokiny

Wyniki uzyskane w różnych układach doświadczalnych wskazują, że najważniejszymi czynnikami zaangażowanymi w regulację wydzielania i aktywności eotaksyn są cytokiny produkowane przez limfocyty Th2: IL-4, IL-13. Mechanizm tej regulacji nie jest ostatecznie znany. Z badań *in vivo* na myszach wynika, że IL-13 skuteczniej niż IL-4 indukuje syntezę eotaksyn w nabłonku oskrzelowym [24], a ponadto IL-13 może wpływać na rekrutację eozynofilów, proces wytwarzania śluzu oraz może indukować ekspresję naczyniowej cząsteczki adhezyjnej 1 (VCAM-1, *vascular cell adhesion molecule*) [25]. Według innych autorów aktywność IL-4 oraz IL-13 w odniesieniu do stymulacji eotaksyny-3 są porównywalne [26]. Z ostatnich badań doświadczalnych z użyciem linii komórkowej BEAS-2B wynika, że IL-4 10-krotnie silniej nasila ekspresję mRNA eotaksyny-3 w stosunku do IL-13 [27]. Sądzi się, że różnice te mogą wynikać z odmiennej ekspresji receptorów cytokinowych na komórkach, a także z silniejszej indukcji przez IL-4 fosforylacji kinazy JAK aktywującej STAT6. Receptory dla interleukin 4 oraz 13 (IL-4R, IL-13R) są złożonymi strukturami ze wspólnym łańcuchem α (IL-4R α), który odgrywa główną rolę w wiązaniu obu tych cytokin z ich receptorami [28]. Interleukina-4 oraz IL-13 są jedynymi cytokinami wiążącymi się z podjednostką IL-4R α .

W stymulacji ekspresji eotaksyn zarówno IL-13, jak i IL-4 mogą działać synergistycznie z czynnikiem martwicy nowotworów α (TNF α , *tumor necrosis factor α*) [29, 30]. Wynika to z faktu, że promotor eotaksyny zawiera zachodzące na siebie miejsca wiązania dla czynników transkrypcyjnych: jądrowego czynnika NF- κ B (*nuclear factor- κ B*) oraz STAT6, których aktywacja prowadzi do ekspresji genu eotaksyn i może przebiegać z udziałem IL-4, IL-13, TNF α [30].

Dotychczas nie określono jednoznacznie oddziaływania interferonu γ (INF- γ , *interferon- γ*) na eotaksyny.

Nieliczne doświadczenia w tym zakresie wskazują jednak na przeciwstawne działanie INF- γ w stosunku do cytokin Th2. Wykazano na przykład hamujące oddziaływanie INF- γ na wytwarzanie eotaksyny-3 przez komórki BEAS-2B [31, 32].



Rycina 1. Rola eotaksyn w degranulacji eozynofiliów podczas ekspozycji na alergen u chorych na astmę. Komórki nabłonka dróg oddechowych pod wpływem cytokin produkowanych przez ekspozycję na alergen mastocyty i limfocyty Th2 (interleukina 4 i 13 [IL-4, IL-13]) wytwarzają eotaksyny. Chemokiny te wiążą się wybiórczo z eozynofilami przez receptor CCR3, powodując degranulację i uwolnienie eozynofiliowych białek cytotoksycznych (głównego białka zasadowego [MBP, *major basic protein*] i białka kationowego eozynofili [ECP, *eosinophil cationic protein*]), co prowadzi do uszkodzenia nabłonka. Syntezę eotaksyn nasila czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α , *tumor necrosis factor α*) produkowany przez makrofagi. Wytwarzana przez limfocyty Th2 interleukina 5 (IL-5) zwiększa pulę eozynofili we krwi

Figure 1. The role of eotaxins in eosinophil degranulation during allergen exposure in asthmatic patients. Airway epithelial cells generate eotaxins after stimulation with cytokines (IL-4, IL-13) produced by Th2 lymphocytes and mast cells exposed to antigen stimulation. Eotaxins bind selectively CCR3 receptor on eosinophils, cause eosinophil degranulation releasing cytotoxic proteins (MBP, ECP) which damage lung epithelial cells. TNF α produced by macrophages enhances the eotaxin synthesis. IL-5 produced by Th2 lymphocytes is the main cause of blood eosinophilia

Ostatnio wykazano, że stymulatorem wydzielania eotaksyny-1 może być także IL-17a (doświadczenia na komórkach mięśni gładkich dróg oddechowych [ASM, *airway smooth muscle*]) [34].

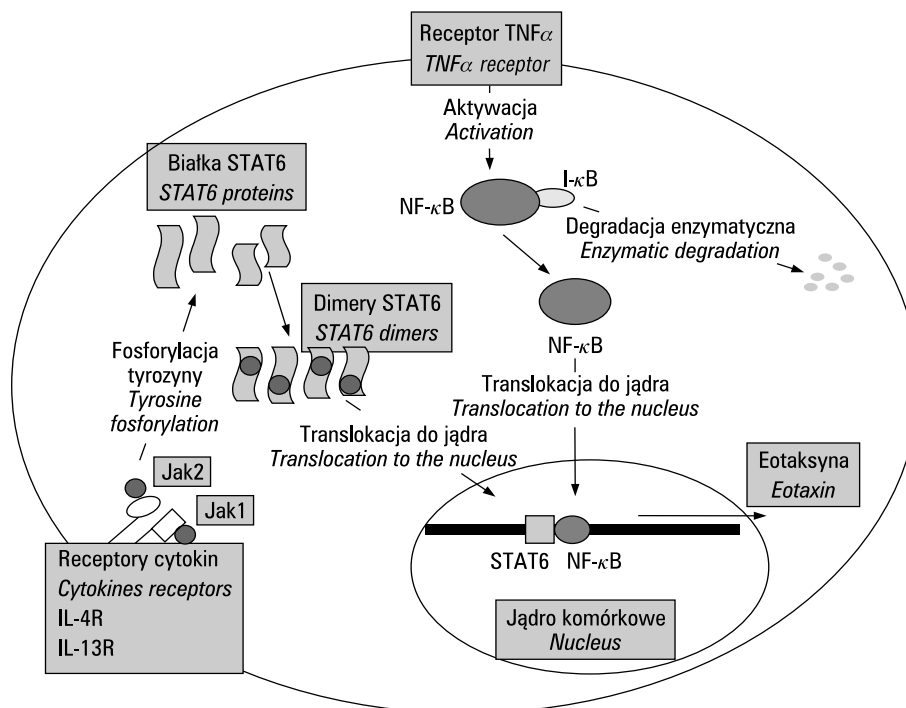
Schematycznie rekrutację eozynofiliów oraz rolę eotaksyn w destrukcji nabłonka dróg oddechowych w przebiegu procesów alergicznych ilustruje rycina 1. Udział czynników transkrypcyjnych w ekspresji genu eotaksyn przedstawiono na rycinie 2.

Eotaksyny a leki stosowane w leczeniu astmy

Wydaje się, że eotaksyny mogą być jednym z ważnych celów terapeutycznych u chorych na astmę. Stosunkowo liczne obserwacje w tym zakresie dotyczą działania glikokortykoidów, które hamują ekspresję tych chemokin w hodowlach linii komórkowych nabłonka dróg oddechowych [26, 35, 36]. Terapia kortykosteroidami podawanymi doustnie zmniejsza stężenie eotaksyn i eozynofiliów w biopatach z dróg oddechowych osób chorych na astmę,

ale powoduje zwiększoną ekspresję IL-8 i gromadzenie neutrofilów [37]. Z kolei kortykosteroidy wziewne hamują eozynofilię, ale nie wpływają znacząco na wydzielanie eotaksyn. W badaniach BALf chorych z astmą leczonych wziewnymi kortykosteroidami nie obserwowano różnic w stężeniu eotaksyn w porównaniu z płynem BAL osób leczonych β -mimetykami [38]. Wydaje się, że dotychczasowe doświadczenia nie pozwalają na ostateczną ocenę wpływu kortykosteroidów na syntezę eotaksyn w warunkach *in vivo*. Rozstrzygnięcie problemu wymaga dalszych obserwacji na liczniejszych niż dotychczas grupach chorych. Niektórzy autorzy sugerują, że w astmie nieleczony kortykosteroidami obecność eotaksyny oraz chemokiny pochodzącej z makrofagów (MDC, *macrophage-derived chemokine*) w wydychanym powietrzu może być potencjalnym nieinwazyjnym markerem zapalenia [39].

Na poziom ekspresji eotaksyny wpływają także inhibitory fosfodiesterazy typu 4 (PDE4) — nowa grupa leków przeciwzapalnych, która zna-



Rycina 2. Udział czynników transkrypcyjnych STAT6 i NF- κ B w ekspresji genu eotaksyny w komórkach nabłonków dróg oddechowych. Interleukiny 13 i 4 (IL-13, 4), łącząc się ze swoistymi kompleksami receptorowymi IL-4R oraz IL-13R, pobudzają związane z receptorami kinazy JAK-1 i JAK-2 do fosforylacji tyrozyny białek STAT6. Fosforylowane dimery STAT6 translokują się do jądra, gdzie łączą się z promotorem eotaksyny. Czynniki martwicy nowotworów α (TNF α , tumor necrosis factor α) via receptor TNFR1 aktywuje utrzymywany w cytoplazmie w nieaktywnej formie dimer NF- κ B:I- κ B, przez enzymatyczną degradację I- κ B. Uaktywniony NF- κ B translokuje się do jądra, gdzie wiąże się z promotorem eotaksyny. W obszarze promotora eotaksyn miejsca działania czynników transkrypcyjnych: NF- κ B i białek STAT6 są ułożone liniowo i zachodzą na siebie [16, 27, 31–33]

Figure 2. Schematic representation of STAT6 and NF- κ B role in eotaxin gene expression in epithelial cells. IL-13 and IL-4 act through their specific complex of receptors IL-4R and IL-13R. Those cytokines stimulate Jak-1 and Jak-2 kinases which bind to IL-13 and IL-4 receptors, to tyrosine phosphorylation of STAT6 proteins. Phosphorylated STAT6 dimers translocate to the nucleus and activate eotaxin promoter. TNF α via TNFR1 receptor activate dimer NF- κ B:I- κ B through enzymatic degradation of I- κ B. Activated NF- κ B translocate to the nucleus and activate eotaxin promoter. Transcription factors NF- κ B and STAT6 activation places overlapping on DNA strand [16, 27, 31–33]

lazła zastosowanie w leczeniu chorób alergicznych układu oddechowego [40]. Inhibitory PDE4 powodują wzrost cAMP w komórkach struktur układu oddechowego, a także w eozynofilach, i na tej drodze blokują wiele niekorzystnych zjawisk w przebiegu astmy. W odniesieniu do eozynofili inhibitory PDE4 ograniczają produkcję nadtlenu, syntezę LTC₄, aktywację β 2-integryny CD11b/CD18, złuszczenie L-selektyn [41], mogą także obniżać stężenie eotaksyn. Siliva i wsp. wykazali, że inhibitor PDE4 — rolipram zmniejsza stężenie eotaksyn u uczulonych ovalbuminą świnek morskich, a także hamuje akumulację eozynofili w płucach przez mechanizmy niezależne od blokady produkcji eotaksyn [42].

Uwagi końcowe

Obecna wiedza o mechanizmach działania eotaksyn pochodzi z różnych układów doświad-

czalnych. Badania prowadzono najczęściej *in vitro* na liniach komórkowych, rzadziej na zwierzętach, niezbyt liczne są również prace oparte na materiale klinicznym. Różne układy doświadczalne dawały niekiedy nieporównywalne wyniki. Na przykład u świnek morskich wykryto jedną eotaksynę, u myszy poznano dwa homologi, a u ludzi — trzy różne eotaksyny. W doświadczeniach *in vitro* najczęściej stosowanym modelem były linie komórkowe ludzkiego nabłonka oskrzelowego (BEAS-2B lub NCI-H7270), ludzkie fibroblasty płucne (linia HFL-1), komórki pozyskane z żyły pępowinowej (HUVEC, human umbilicus vein endothelial cells), a także linie ludzkich eozynofili (ATCC CRL-1964 lub HL-60 EOS).

W podsumowaniu należy wspomnieć, że niezależnie od kontynuacji badań poznawczych w zakresie mechanizmów regulacji syntezy eotaksyn i zjawisk regulowanych przez te chemokiny, pewne nadzieje wiąże się obecnie z możliwością

terapeutycznego ograniczania rekrutacji eozynofiliów w przebiegu chorób alergicznych przez blokowanie osi receptor CCR3:eotaksyny [8, 43].

Piśmiennictwo

1. Tillie-Leblond I., Gosset P., Tonnel A.B. Inflammatory events in severe acute asthma. *Allergy* 2005; 60: 23–29.
2. Djukanovic R., Roche W.R., Wilson J.W. i wsp. Mucosal inflammation in asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990; 142: 434–457.
3. Bousquet J., Chanez P., Lacoste J.Y. i wsp. Eosinophilic inflammation in asthma. *N. Eng. J. Med.* 1990; 323: 1033–1039.
4. James A. Airway remodeling in asthma. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2005; 11: 1–6.
5. Kay A.B., Phipps S., Robinson D.S. A role for eosinophils in airway remodelling in asthma. *Trends Immunol.* 2004; 25: 477–482.
6. Hermanowicz-Salamon J., Grubek-Jaworska H., Wrońska J., Droszcz W., Chazan R. Wpływ leczenia glikokortykosteroidami na stężenie ECP w płwocinie indukowanej u chorych na astmę oskrzelową w okresie zaostrzenia. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2002; 70: 527–535.
7. Collins P., Marleau S., Griffiths-Johnson D.A., Jose P.J., Williams T.J. Cooperation between interleukin-5 and the chemokine eotaxin to induce eosinophil accumulation in vivo. *J. Exp. Med.* 1995; 182: 1169–1174.
8. Foster P.S., Mould A.W., Yang M. i wsp. Elemental signals regulating eosinophil accumulation in the lung. *Immunol. Rev.* 2001; 179: 173–181.
9. Kay A.B., Menzies-Gow A. Eosinophils and interleukin-5. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167: 1586–1587.
10. Fal A.M., Nowak A.A., Nowak M.T., Malolepszy J. Mechanizmy regulujące eozynofilię tkankową w astmie oskrzelowej ze szczególnym uwzględnieniem apoptozy. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2003; 71: 281–287.
11. Lampinen M., Carlson M., Håkansson L.D., Venge P. Cytokine-regulated accumulation of eosinophils in inflammatory disease. *Allergy* 2004; 59: 793–805.
12. Jose P.J., Griffiths-Johnson D.A., Collins P.D. i wsp. Eotaxin: a potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in a guinea pig model of allergic airways inflammation. *J. Exp. Med.* 1994; 179: 881–887.
13. Kitauro M., Nakajima T., Imai T. i wsp. Molecular cloning of human eotaxin, an eosinophil-selective CC chemokine, and identification of specific eosinophil eotaxin receptor, CC chemokine receptor 3. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 7725–7730.
14. Shinkai A., Yoshisue H., Koike M. i wsp. A novel human CC chemokine, eotaxin-3, which is expressed in IL-4 stimulated vascular endothelial cells exhibits potent activity toward eosinophils. *J. Immunol.* 1999; 163: 1602–1610.
15. Daugherty B.L., Siciliano S.J., DeMartino J.A., Malkowitz L., Sirofina A., Springer M.S. Cloning, expression, and characterization of the human eosinophil eotaxin receptor. *J. Exp. Med.* 1996; 183: 2349–2354.
16. Zimmermann N., Konkright J.J., Rothenberg M.E. CC chemokine receptor-3 undergoes prolonged ligand-induced internalization. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 12611–12618.
17. Badewa A.P., Hudson C.E., Heiman A.S. Regulatory effects of eotaxin, eotaxin-2 and eotaxin-3 on eosinophil degranulation and anion generation. *Exp. Biol. Med.* 2001; 227: 645–651.
18. Brown I.R., Kleimberg J., Marini M., Sun G., Bellini A., Mattoli S. Kinetics of eotaxin expression and its relationship to eosinophil accumulation and activation in bronchial biopsies and bronchoalveolar lavage (BAL) of asthmatic patients after allergen inhalation. *Clin. Exp. Immunol.* 1998; 114: 137–146.
19. Ravensberg A.J., Ricciardolo F.L., van Schadewijk A. i wsp. Eotaxin-2 and eotaxin-3 expression with persistent eosinophilic bronchial inflammation in patients with asthma after challenge. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 115: 779–785.
20. Berkman N., Ohnosa S., Chung F.K., Breuer R. Eotaxin-3 but not eotaxin gene expression is upregulated in asthmatics 24 hours after allergen challenge. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2001; 24: 682–687.
21. Hadjicharalambous Ch., Dent G., May R.D. i wsp. Measurement of eotaxin (CCL11) in induced sputum supernatants: validation and detection in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004; 113: 657–662.
22. Yamamoto K., Takanashi S., Hasegawa Y., Kanehira Y., Kaizuka M., Okumura K. Eotaxin level in induced sputum is increased in patients with bronchial asthma and in smokers. *Respiration* 2003; 70: 600–605.
23. Bumbacea D.I., Scheerens J., Mann B.S., Stirling R.G., Chung K.F. Failure of sputum eosinophilia after eotaxin inhalation in asthma. *Thorax* 2004; 59: 372–375.
24. Li L., Xia Y., Nguyen A. i wsp. Effects of Th2 cytokines on chemokine expression in the lung: IL-13 potently induces eotaxin expression by airway epithelial cells. *J. Immunol.* 1999; 162: 2447–2487.
25. Bochner B.S., Klunk D.A., Sterbinsky S.A., Coffman R.L., Schleimer R.P. IL-13 selectively induces vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Immunol.* 1995; 154: 799–803.
26. Banwell M.E., Tolley N.S., Williams T.J., Mitchel T.J. Regulation of human eotaxin-3/CCL26 expression: modulation by cytokines and glucocorticoids. *Cytokine* 2002; 17: 317–323.
27. Kobayashi I., Yamamoto S., Nishi N. i wsp. Regulatory mechanism of Th2 cytokine-induced eotaxin-3 production in bronchial epithelial cells: possible role of interleukin 4 receptor and nuclear factor-kappaB. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2004; 93: 390–397.
28. Andrews A.L., Hollway J.W., Holgate S.T., Davies D.E. IL-4 receptor alpha is an important modulator of IL-4 and IL-13 receptor binding: implications for the development of therapeutic targets. *J. Immunol.* 2006; 176: 7456–7461.
29. Matsukura S., Stellato C., Georas S.N. i wsp. Interleukin-13 upregulates eotaxin expression in airway epithelial cells by a STAT6-dependent mechanism. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2001; 24: 755–761.
30. Matsukura S., Stellato C., Splitt J.R. i wsp. Activation of eotaxin gene transcription by NFκB and STAT6 in human airway epithelial cells. *J. Immunol.* 1999; 163: 6876–6883.
31. Matsukura S., Kokubu F., Kuga H. i wsp. Differential regulation of eotaxin expression by INF-γ in airway epithelial cells. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003; 111: 1337–1344.
32. Yamamoto S., Kobayashi I., Tsuji K. i wsp. Upregulation of interleukin-4 receptor by interferon-γ enhanced interleukin-4-induced eotaxin-3 production in airway epithelium. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2004; 31: 456–462.
33. Jiang H., Harris M.B., Rothman P. IL-4/IL-13 signaling beyond JAK/STAT. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000; 105: 1063–1070.
34. Rahman M.S., Yamasaki A., Yang J., Shan L., Halayko A.J., Gounni A.S. IL-17a induced eotaxin-1/CC chemokine ligand 11 expression in human airway smooth muscle cells: role of MAPK (Erk1/2, and p38) pathways. *J. Immunol.* 2006; 177: 4064–4071.
35. Jahnsen F.L., Haye R., Gran E., Brandtzaeg P., Johansen F.E. Glucocorticosteroids inhibit mRNA expression for eotaxin, eotaxin-2, and monocyte chemoattractant protein-4 in human airway inflammation with eosinophilia. *J. Immunol.* 1999; 163: 1545–1551.
36. Matsukura S., Kokubu F., Kurosawa M. i wsp. Molecular mechanisms of repression of eotaxin expression with fluticasone propionate in airway epithelial cells. *Allergy Immunol.* 2004; 134: 12–20.
37. Fukakusa M., Bergeron C., Tulic M.K. i wsp. Oral corticosteroids decrease eosinophil and CC chemokine expression but increase neutrophil, IL-8, and INF-γ-inducible protein 10 expression in asthmatic airway mucosa. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 115: 280–286.
38. Feltis B.N., Reid D.W., Ward C., Walters E.H. BAL eotaxin and IL-5 in asthma, and the effects of inhaled corticosteroid and β2 agonist. *Respirology* 2004; 9: 507–513.
39. Ko F.W., Lau C.Y., Leung T.F. i wsp. Exhaled breath condensate level of eotaxin and macrophage-derived chemokine in stable adult asthma patients. *Clin. Exp. Allergy* 2006; 36: 44–51.
40. Sanz M.J., Cortijo J., Morcillo E.J. PDE4 inhibitors as new anti-inflammatory drugs: effects on cell trafficking and cell adhesion molecules expression. *Pharmacol. Ther.* 2005; 106: 269–297.
41. Essayan D.M. Cyclic nucleotide phosphodiesterase. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 108: 671–680.
42. Silva P.M., Alves A.C., Serra M.F. i wsp. Modulation of eotaxin formation and eosinophil migration by selective inhibitors of phosphodiesterase type 4 isoenzyme. *Br. J. Pharmacol.* 2001; 134: 283–294.
43. Pease J.E. Asthma, allergy and chemokines. *Curr. Drug Targets* 2006; 7: 3–12.